

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE
FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS
PROVINCIAS DE ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO.”

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar el Título de
Médico Veterinario y Zootecnista.

AUTORES:

Raúl Efrén Díaz Albuja

Oscar Fabián Lamiña Juiña

TUTOR

Dr. Washington Benítez O. Ph. D.

Quito, Abril, 2013

DEDICATORIA

A mi madre María Rosario.

Por sus consejos, sus valores, infinito

amor y bendiciones constantes desde el cielo.

Oscar

A mis padres: Héctor Raúl y Odila.

Por su amor y continuo sacrificio.

Raúl

RECONOCIMIENTOS

A Dios: por habernos permitido alcanzar este sueño, por ser el manantial de vida y darnos salud, fortaleza y todo lo necesario para seguir adelante día a día, además de su infinita bondad y amor.

Un profundo reconocimiento al Centro Internacional de Zoonosis por habernos brindado la oportunidad de participar dentro del "Proyecto Encuesta Nacional Epidemiológica Brucelosis, Tuberculosis y Garrapatas", en especial, al Dr. Jorge Ron, Ing. Lenin Ron, Dr. Richar Rodríguez, Bioq. Paulina Fernández, por sus tiempos compartidos para la elaboración de esta tesis y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

Sincero reconocimiento al personal técnico de la "Encuesta Nacional Epidemiológica Brucelosis, Tuberculosis y Garrapatas": Ing. Alicia Maya, Biol. Verónica Guasumba, Biol. Franklin Vaca, Dra. Sandra Enríquez, Dr. Marco Coral, Sr. Jaime Angamarca, Srta. Gabriela Ortiz, Sr. Iván Lucero, Sr. Andrés Salguero y Sr. Roberto Alajo por ser partícipes del trabajo de campo para el desarrollo de esta tesis.

Un especial reconocimiento a nuestro tutor: Dr. Washington Benítez. Ph.D., que con paciencia y atención dirigió el proyecto hasta su culminación.

Al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, que otorgó en parte el soporte financiero, así como también, la colaboración de todo su personal técnico indispensable en la logística para el desarrollo de las actividades en campo.

Un inmenso reconocimiento a todos los ganaderos, por habernos facilitado sus animales y ser parte principal de esta investigación.

Finalmente, a todos los amigos, maestros, aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario, y que nos ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis.

Oscar y Raúl

A mi hermana Jimena, por todos sus esfuerzos, consejos y regaños brindados, para que yo ahora esté culminando esta etapa de mi vida, a mi esposa Marcela y a mi hija Chantal, por llenar mi vida de alegrías y amor, cuando más lo he necesitado; a ellas, mi eterno amor y gratitud.

Oscar

AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL

Nosotros, RAÚL EFRÉN DÍAZ ALBUJA Y OSCAR FABIÁN LAMIÑA en calidad de autores de la tesis, "DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS PROVINCIAS DE ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO.", por la presente autorizamos a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR , hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autores nos corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a nuestro favor, de conformidad con el establecimiento en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

En la ciudad de Quito, a los 25 días del mes de Enero de 2013.



Raúl Efrén Díaz Albuja

CI: 172020477-3

E-mail: raulddiaz@hotmail.com



Oscar Fabián Lamiña Juiña

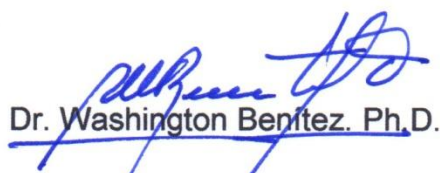
CI: 172007077-8

E-mail: oscar-skb1986@hotmail.com

INFORME DEL TUTOR

En mi carácter de Tutor del Trabajo de Grado, presentado por los señores: RAÚL EFRÉN DÍAZ ALBUJA Y OSCAR FABIÁN LAMIÑA JUIÑA, para optar por el Título o Grado de Médico Veterinario y Zootecnista, cuyo título es "DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS PROVINCIAS DE ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO." Considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

En la ciudad de Quito, a los 22 días del mes de Enero de 2013.


Dr. Washington Benítez. Ph.D.
CI:110045928-6

APROBACIÓN DEL TRABAJO / TRIBUNAL

"DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS PROVINCIAS DE ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO."

El tribunal constituido por:

PRESIDENTE: Dr. Richar Rodríguez. Ph.D.

VOCAL PRINCIPAL: Dr. Gilberto Villacís.

VOCAL PRINCIPAL: Dr. Bolívar Ricaurte.

TUTOR: Dr. Washington Benítez. Ph.D.

Luego de receptar la presentación del trabajo de grado, previo a la obtención del título o grado de MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA, presentado por los señores, Raúl Efrén Díaz Albuja y Oscar Fabián Lamiña Juiña.

Con el título "DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS PROVINCIAS DE ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO."

Ha emitido el siguiente veredicto, cumplidos los requisitos reglamentarios y una vez efectuada la defensa de Tesis, se concluye con la Aprobación de la defensa de tesis, presentada por los señores Raúl Efrén Díaz Albuja y Oscar Fabián Lamiña Juiña.

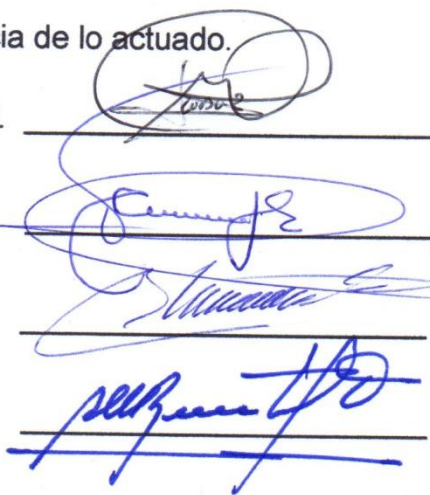
Fecha: 17 de Abril del 2013. Para constancia de lo actuado.

PRESIDENTE: Dr. Richar Rodríguez. Ph.D.

VOCAL PRINCIPAL: Dr. Gilberto Villacís.

VOCAL PRINCIPAL: Dr. Bolívar Ricaurte.

TUTOR: Dr. Washington Benítez. Ph.D.



ÍNDICE DE CONTENIDO

	P.P.
DEDICATORIA	ii
RECONOCIMIENTOS	iii
AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL	iv
INFORME DEL TUTOR	vi
APROBACIÓN DEL TRABAJO / TRIBUNAL	ix
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN.....	xii
SUMMARY	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I.....	3
EL PROBLEMA.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
JUSTIFICACIÓN	3
CAPÍTULO II.....	5
<u> </u> MARCO TEÓRICO	5
<u> </u> ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	5
<u> </u> FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
<u> </u> HISTORIA	7
<u> </u> GÉNERO <i>BRUCELLA</i>	8
<u> </u> CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	8
<u> </u> CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS	10
<u> </u> RESISTENCIA	10
<u> </u> BRUCELOSIS BOVINA.....	11

___ SINONIMIAS	11
___ DISTRIBUCIÓN	11
___ TRASMISSION	12
___ PATOGENIA	12
___ SINTOMATOLOGÍA	12
___ IMPORTANCIA EN LA SALUD PÚBLICA	12
___ DIAGNÓSTICO	13
___ PRUEBA DE ROSA DE BENGALA	13
___ AGLUTINACIÓN LENTA EN TUBO DE WRIGHT EN PRESENCIA DE EDTA (SAT- EDTA)	14
___ FACTORES DE RIESGO VINCULADOS A LA BRUCELOSIS BOVINA ..	14
___ FACTORES VINCULADOS A LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ANIMAL	14
___ FACTORES RELACIONADOS CON EL MANEJO DE LOS ANIMALES ..	15
CAPITULO III	19
___ METODOLOGÍA	19
___ LUGAR DE ESTUDIO	19
___ PROCEDIMIENTO	19
___ DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	20
___ TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN	22
___ PRUEBA ROSA DE BENGALA (RB)	23
___ AGLUTINACIÓN LENTA DE WRIGHT EN PRESENCIA DE EDTA (SAT-EDTA)	24
___ ANÁLISIS DE DATOS	27
CAPITULO IV	28
___ RESULTADOS	28
___ DISCUSIÓN	36

CAPITULO V.....	40
___CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	40
___CONCLUSIONES	40
___RECOMENDACIONES	40
REFERENCIAS	41
ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE GRÁFICOS

P.P.

Gráfico 1. Zona de estudio	29
Gráfico 2. Localización y estimación de seropositividad por fincas en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

P.P.

Tabla 1. Estudios sobre brucelosis bovina, realizados por universidades ecuatorianas	6
Tabla 2. Especies y biovariedades del género <i>Brucella</i> spp.....	9
Tabla 3. Supervivencia de <i>Brucella</i> en el medio ambiente	10
Tabla 4. Número de animales mínimo a muestrear según la cantidad de animales por finca	21
Tabla 5. Número de animales y fincas muestreadas por provincia.....	21
Tabla 6. Procedimiento para la realización de la prueba SAT-EDTA.....	25
Tabla 7. Relación entre el grado de translucidez, dilución del suero a investigar, y Unidades Internacionales de Aglutinación /ml, según diluciones del suero control positivo	26
Tabla 8. Comparación de resultados RB y SAT-EDTA en el total de animales muestreados	31
Tabla 9. Características de los 3 animales seropositivos a las pruebas de diagnóstico en la provincia de El Oro	31
Tabla 10. Descripción de las tres explotaciones ganaderas positivas en la provincia de El Oro.....	32
Tabla 11. Factores de riesgo investigados para Brucelosis en Zamora Chinchipe, Loja y El Oro a nivel de fincas	34
Tabla 12. Factores de riesgo investigados para Brucelosis en Zamora Chinchipe, Loja y El Oro a nivel de animales	35

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ANÁLISIS DE FACTORES
DE RIESGO DE BRUCELOSIS EN BOVINOS, EN LAS PROVINCIAS DE
ZAMORA CHINCHIPE, LOJA Y EL ORO."

Autores: Raúl Efrén Díaz Albuja
Oscar Fabián Lamiña Juiña
Tutor: Dr. Washington Benítez. Ph.D.
Fecha: 22, Enero 2013

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal, determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp., en bovinos (n=3806) de explotaciones ganaderas (n=504) de las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro. Dos pruebas serológicas, Rosa de Bengala (RB) y Prueba de Wright en presencia de EDTA (SAT- EDTA) fueron realizadas en este estudio, encontrándose un bajo porcentaje de animales portadores de anticuerpos para brucelosis. Así, un 0,079% (3/3806) de animales fueron reactores positivos para Rosa de Bengala y un 0,053% (2/3806) para SAT-EDTA, dando una prevalencia a nivel de fincas de 0,59% (3/504) I.C._{95%} (0,0054 – 0,0188). Para evaluar los factores de riesgo se aplicó una encuesta epidemiológica. Este cuestionario incluyó aspectos relacionados con la ubicación de la finca, datos generales tales como: sistema de reproducción, manejo de abortos, diagnóstico y vacunación de brucelosis. Sin embargo, debido a que los resultados obtenidos en esta investigación, no poseen los valores estadísticos necesarios para realizar un análisis bivariado de asociación e identificar factores mediante estadísticos de riesgo (riesgo relativo y odds ratio); no se pudo determinar los factores de riesgo para la presencia de la enfermedad en la zona. La provincia de El Oro, fue la única provincia donde se registraron fincas y animales positivos equivaliendo estos datos a una prevalencia de 3,45% (3/87) I.C._{95%} (0,009 – 0,1045) y una prevalencia en animales de 0,32% (3/943) I.C._{95%} (0,00082-0,010) respectivamente.

Palabras Claves: PREVALENCIA, BRUCELOSIS, ROSA DE BENGALA, SAT-EDTA, FACTORES DE RIESGO.

"SEROPREVALENCE DETERMINATION AND ANALYSIS OF BRUCELLOSIS
RISK FACTORS IN BOVINES OF ZAMORA CHINCHIPE, LOJA AND EL ORO
PROVINCES."

SUMMARY

The present study had as main objective to determine the presence of antibodies against *Brucella* spp. in cattle ($n = 3806$) of farms ($n = 504$) in the provinces of Zamora Chinchipe, Loja and El Oro. Two serological tests, were performed in this study, Rose Bengal (RB) and Wright test in the presence of EDTA (SAT-EDTA), resulting in a low percentage of animals bearing antibodies for brucellosis. Thus, a 0,079% (3/3806) of animals were positive reactors for Rose Bengal and 0,053% (2/3806) for SAT-EDTA, giving a farm-level prevalence of 0,59% (3/504) 95% (0,0054 to 0,0188). To assess risk factors an epidemiological survey was used. This questionnaire included questions about: farm location, general information such as breeding system, abortions management and brucellosis diagnosis and vaccination. However, because the results obtained in this research do not possess the necessary statistical values for bivariate analysis of association and to identify risk factors using statistical analysis (relative risk and odds ratio) it could not be determined the risk factors for the presence of disease in the area. The province of El Oro, was the only province where there were positive animal farms and equating this data to a prevalence of 3,45% (3/87) 95% (0,009 to 0,1045) and a prevalence in animals 0,32% (3/943) 95% (0,00082 to 0,010), respectively.

Keywords: PREVALENCE, BRUCELLOSIS, ROSE BENGAL, SAT-EDTA, RISK FACTORS.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis, es una enfermedad infectocontagiosa de etiología bacteriana producida por diversas especies del género *Brucella*, que afecta tanto al humano como a diferentes especies de animales domésticos, la importancia económica que representa la brucelosis está dada por las pérdidas que ocasiona en los animales principalmente en bovinos, al causar abortos, infertilidad y baja en la producción de leche (Díaz *et al.*, 2001), se estiman que anualmente las pérdidas ascienden a 600 millones de dólares en América Latina (Acha & Szyfres, 2001).

Según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en el Código Sanitario para los animales terrestres, la brucelosis figura como enfermedad de declaración obligatoria, en la cual se detallan enfermedades transmisibles consideradas importantes desde el punto de vista socioeconómico y sanitario a nivel nacional, y cuyas repercusiones en el comercio internacional de animales y productos de origen animal son considerables. (OIE, 2012).

La brucelosis bovina, esta difundida en todo el mundo presente en el continente americano, con prevalencias de más del 5% en países como: Argentina, Venezuela, México, Chile, únicamente ha sido controlada en Uruguay, país en el cual se estima que la prevalencia es inferior al 0,5% (Gil & Samartino, 2000).

En el Ecuador, se considera que existe una prevalencia del 6 %, para el año 1979, dada la ausencia de un programa nacional de control y prevención, se asume que la enfermedad habría incrementado su frecuencia de presentación sobre todo en aquellas áreas de mayor intensidad de los procesos de producción y comercialización ganadera, es así que para el año 2000, se calcula una pérdida anual de US\$ 5'487.265 (MAGAP & AGROCALIDAD, 2009).

La relevancia de disponer de información actualizada sobre la situación real de la brucelosis bovina implica conocer, mediante la realización de estudios de carácter epidemiológico, aquellos factores que favorecen su transmisión, para así estar en condiciones de dictar las estrategias adecuadas para su prevención, control y erradicación. Todo esto se traduciría en una mayor eficacia en la producción de alimentos de origen animal y en una disminución del número de casos de brucelosis en humanos, así como en la eliminación de una barrera no arancelaria de tipo sanitario que influye de manera negativa en el comercio de animales y sus productos, particularmente con otros países (Luna & Mejía, 1995).

CAPITULO I
EL PROBLEMA
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La falta de conocimiento y distribución geográfica actual de las tasas de prevalencia de la brucelosis bovina en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro.

Desconocimiento de los posibles factores de riesgo que influyen en la presentación y/o mantenimiento de la brucelosis bovina.

JUSTIFICACIÓN

Ecuador, considerado como un país ganadero que posee tanto ganado lechero estabulado como rústico, la brucelosis en los bovinos se encuentra ampliamente difundida en grados variables de intensidad de acuerdo con los diferentes sistemas de producción ganaderas existentes. De acuerdo a la encuesta serológica realizada en el año de 1978 por el programa de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería; los niveles de prevalencia en el país se encontraban entre 1,3 y 10,6 % (MAGAP & AGROCALIDAD, 2009).

Las estadísticas de prevalencia recolectadas en aquel entonces con respecto a la brucelosis bovina, reflejan parcialmente la magnitud del problema epidemiológico que representa esta enfermedad en la ganadería y en los seres humanos, que en general contiene divergencias metodológicas y no alcanzan a representar adecuadamente la realidad nacional.

Por otra parte y en razón de las características de esta enfermedad, no es factible utilizar resultados de estudios anteriores, para determinar una tasa de prevalencia provincial y que posibilite su verificación posterior, en

razón de la dispersión existente y acordar, por lo tanto, las medidas profilácticas a adoptar en los programas de erradicación existentes en el Ecuador (Sota *et al.*, 2006).

Por lo antes expuesto es fundamental conocer la situación epidemiológica actual de la brucelosis en las tres provincias, para contribuir a que las autoridades gubernamentales encargadas de la sanidad animal perfeccionen los programas de prevención y control de la brucelosis bovina y la utilización de un diagnóstico confiable para la determinación de la situación real, el establecimiento de hatos y áreas libres de la enfermedad y la disminución del riesgo de la enfermedad para el humano.

Para la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos: Determinar la seroprevalencia y análisis de los posibles factores de riesgo de brucelosis en bovinos de las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y el Oro. Por consiguiente detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. por dos métodos serológicos: Rosa de Bengala (RB) y Prueba de Wright en presencia de EDTA (SAT-EDTA) y, además, evaluar los factores de riesgo de la enfermedad mediante la aplicación de una encuesta epidemiológica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Considerando la caracterización epidemiológica de la brucelosis bovina en el país realizado por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), la cual menciona que no se dispone de información sobre las provincias amazónicas, pero se estima que dados los sistemas de producción existentes, los niveles de ocurrencia deben ser igualmente bajos. La provincia de Loja está ubicada en la región epidemiológica tres de baja prevalencia, con una prevalencia de 1.3% al 2.6%, El Oro ubicada en la región dos de alta prevalencia, con una prevalencia entre 4.2% y 10.62% (MAGAP-AGROCALIDAD, 2009).

En la tabla No.1 se indican las investigaciones efectuadas en el campo de la brucelosis bovina, realizadas por diferentes universidades del Ecuador, que según Ron & Benítez, (2005) no son sistemáticas debido a que por lo general, utilizan métodos de diagnóstico poco sensibles y reactivos no estandarizados; así como, el bajo número de aislamientos y tipificaciones de *Brucella* spp., no han permitido tener una apreciación veraz del problema en el Ecuador.

Tabla 1. Estudios sobre brucelosis bovina, realizados por universidades ecuatorianas

Autor	Tesis	Universidad	Zona de Estudio	Pruebas de Diagnóstico	No. de Muestra	No. de UPAS	Porcentaje positivos
Alvarado, 1959	Índice Brucelósico en bovinos del cantón Zaruma	Universidad Central del Ecuador	Zaruma	Huddleson	607	26	3,5
Olleague, 1969	Determinación de la incidencia de brucelosis por medio de la prueba Ring Test, en las ganaderías de la provincia de El Oro	Universidad Estatal de Guayaquil	El Oro	MRT	1231	208	20-57
Valdivieso, 1969	Determinación de la incidencia de brucelosis por medio de la prueba de sero-aglutinación en placa, en las ganaderías de la zona de Machala	Universidad Estatal de Guayaquil	Machala	Huddleson	1537	ND	9,9
				MRT	1537	ND	5
Nieto, 1981	Investigación y diagnóstico de brucelosis en las ganaderías bovinas en los cantones Santa Rosa y Arenillas de la Provincia de El Oro mediante pruebas MRT	Universidad de Guayaquil	El Oro	MRT	119	119	39,5
Quinde, 1959	Diagnóstico de la brucelosis bovina de la Hoya de Loja	Universidad Nacional de Loja	Loja	Huddleson	300	ND	0,7 (Sosp.)
Chauvin, 1969	Diagnóstico de brucelosis en bovinos en la provincia de Loja, por el método cromatográfico de Castañeda, controlado por el método de Huddleson	Universidad Nacional de Loja	Loja	Huddleson	ND	ND	0
Segarra, 1971	Investigación de brucelosis en bovinos de Loja por el método de Ring Test y Huddleson	Universidad Nacional de Loja	Loja	MRT	2500	ND	0,3
MRT: Milk Ring Test; ND: No determinado; UPAS: Unidades de Producción Agrícola; Sosp: Sospechoso							

Elaboración: Ron & Benítez, 2005, modificada por los autores

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Historia

La brucelosis ha sido estudiada desde el año 460 aC por Hipócrates. Las primeras definiciones acerca de la enfermedad las realizó Cleghorn en 1751.

En 1810, Burnett, fue el primero en distinguir varios tipos de fiebre que sufrieron los soldados británicos en el Mediterráneo (Ruiz-Castañeda, 1986).

En 1859 Marston, describió el cuadro clínico de la enfermedad, debido a que padeció fases de fiebre ondulante, con síntomas gastrointestinales, dolores articulares y musculares (Smith & Jones, 1980).

En 1887, David Bruce, aisló a la bacteria causante de la fiebre de Malta al investigar el bazo de soldados británicos caídos por causa de una enfermedad que la obtuvieron en la Isla de Malta, a la cual denominó *Micrococcus melitensis* (Díaz *et al.*, 2001).

En 1896, Bang y Stribolt, aisla la bacteria *Bacillus infectiosi* (Bacilo de Bang) responsable de producir abortos en ganado bovino en Dinamarca (Sbriglio *et al.*, 2007).

En 1897, Wright y Semple desarrollaron la técnica de seroaglutinación en tubo.

En 1905, Zammit, describe el modo de contagio de la enfermedad al ser humano, cuando titula anticuerpos que causan aglutinación en suero de cabras, conjuntamente con Horrocks, quién cultiva la bacteria en la leche y orina de cabras; a partir de eso nace el concepto de zoonosis y se establecen medidas de control (Díaz *et al.*, 2001).

En 1917, Alice Evans evidenció la analogía de los gérmenes aislados por Bruce y Bang, y planteó la instauración de un nuevo género bacteriano (Saegerman *et al.*, 2011).

En 1920, Meyer y Shaw forman un solo género bacteriano llamado *Brucella* en honor a David Bruce, tomando en cuenta características exclusivas de estos microorganismos (Suárez, 2001).

En los siguientes 48 años se han tipificado cuatro especies de *Brucella* spp., así; *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* y *Brucella canis* (Scholz *et al.*, 2010).

Género *Brucella*

Las bacterias del género *Brucella* son cocobacilos pequeños (0,5-0,7 µm por 0,6-1,5 µm), inmóviles, no esporulados, sin cápsula, flagelos, Gram negativos poseen una membrana externa e interna que encierran un espacio periplásmico con peptidoglicano (PG) y otras proteínas (Koneman, 2004).

En el huésped *Brucella* spp., establece una infección persistente, por ser un patógeno intracelular "facultativo" (Aréstegui *et al.*, 2001).

Las cepas de *Brucella* son catalasa positivas, en cambio las reacciones de oxidasa y de ureasa y la producción de H₂S son variables (Young, 1997).

El crecimiento bacteriano óptimo se da a una temperatura de 36°C a 38°C, pero la mayoría crece entre 20°C y 40°C, con un pH óptimo de 6.6 a 7.4 (Sbriglio *et al.*, 2007).

Son aerobios, pero crecen en medios de cultivo con atmósfera de 5 - 10% de dióxido de carbono (CO₂) (Koneman, 2004). La actividad metabólica bacteriana es oxidativo y no fermentador (Moriyón *et al.*, 2001).

Clasificación taxonómica

Según el Comité Internacional de Nomenclatura Bacteriológica, *Brucella* pertenece a:

Dominio:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Proteobacteria alfa
Orden:	Rhizobiales
Familia:	Brucellaceae
Género:	<i>Brucella</i>

El género *Brucella* está constituido por 9 especies que fueron clasificadas en función de la preferencia de su hospedador. Estas son: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella canis*, *Brucella neotomae*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella cetaceae* y *Brucella microti* (Scholz *et. al.*, 2010). Varias especies tienen predilección por un solo hospedador mamífero, mientras que otras se adaptan fácilmente a varios hospedadores, siendo con la capacidad de infectar a varias especies animales e inclusive al hombre (Brooks *et al.*, 2008).

Tabla 2. Especies y biovariedades del género *Brucella* spp.

Especies	Biotipos	Huésped natural	Virulencia para el humano
<i>B. melitensis</i>	1 – 3	cabras, ovejas	Elevada
<i>B. abortus</i>	1 - 6, 9	Bovinos	Moderada
<i>B. suis</i>	1 – 5	Porcinos	Elevada
<i>B. canis</i>	Ninguno	Caninos	Baja
<i>B. ovis</i>	Ninguno	Ovinos	Ninguna
<i>B. neotomae</i>	Ninguno	ratas del desierto	Desconocida
<i>B. pinnipedialis</i>	Ninguno	focas, lobos marinos	Desconocida
<i>B. cetaceae</i>	Ninguno	delfines, ballenas	Desconocida
<i>B. microti</i>	Ninguno	Zorros	Desconocida

Autor: Godfroid *et al.*, 2011

Características genéticas

El ADN de *Brucella* spp., está constituido por un 58-59% de G + C (guanina y citosina) y su tamaño total del genoma es de aproximadamente $2,5 \times 10^6$ pares de bases (Michaux *et al.*, 1997); siendo menor en comparación con *Escherichia coli* ($4,7 \times 10^6$ pares de bases).

Resistencia En fómites *Brucella* spp. se adapta fácilmente al medio ambiente, puede resistir condiciones severas durante días o incluso meses. (Castro *et al.*, 2005, sic). También, son muy sensibles al calor, así las suspensiones disueltas de *Brucella* spp, se destruyen con la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60°C por 30 minutos. A pesar que, una suspensión concentrada no se inactiva fácilmente y se debe aumentar el tiempo de exposición al calor o temperaturas más elevada. *Brucella* es sensible a la radiación ionizante y mueren con rapidez al exponerla a la luz ultravioleta (López, 2002).

Tabla 3. Supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 – 4 días
Fluidos y secreciones	10 – 30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37°C y pH 7,5	menos de 1 día
Agua a 8° C y pH 6,5	más de 57 días
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Fetos abortados	6 – 8 meses
Heces bovinas	1 – 100 días
Tierra húmeda	66 días
Tierra seca	4 días

Autor: Castro *et al.*, 2005

Brucelosis bovina

Sinonimias

En el hombre se conoce como: fiebre melitococcia, fiebre ondulante, fiebre del Mediterráneo (Acha & Szyfres, 2001).

En animales se conoce como: aborto infeccioso, aborto contagioso, aborto epizoótico y enfermedad de Bang en los bovinos causado por *Brucella abortus* (Acha & Szyfres, 2001).

Distribución

La brucelosis se distribuye en todo el mundo, es esporádica en los países industrializados debido al análisis rutinario del ganado doméstico y los programas de vacunación en animales. Se encuentra como enfermedad clínica en el Medio Oriente, Asia, África, América del Sur y Central, la cuenca del Mediterráneo y el Caribe (OIE, 2009).

Las especies de *Brucella* varían en su distribución geográfica. *B. abortus* se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, en las regiones ganaderas con excepción de Japón, Canadá, algunos países europeos, Australia, Nueva Zelanda e Israel, donde ha sido erradicada, mientras que la infección de humanos con *B. melitensis* a partir de cabras y ovejas infectadas es la más relevante en términos de salud pública (Corbel, 1997).

La enfermedad en América Latina se introdujo con la traída de animales infectados por los españoles durante el tiempo de la colonia. La brucelosis por mucho tiempo estuvo concentrada en las zonas de mayor producción ganadera, y a mediados del siglo XX se disemina esta zoonosis por todo el continente (Ruiz-Castañeda, 1954).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), en América, existen cerca de 793,6 millones de personas, donde casi 4 de cada 10 de personas, residen en países en los cuales está presente la enfermedad en bovinos y caprinos (Álvarez, 2001).

Trasmisión

La mayor transmisibilidad de la enfermedad en los animales se da por medio de los abortos, envolturas fetales y descargas vaginales que vienen a ser fuente de contaminación del ambiente y una vez contaminado el medio con la bacteria *Brucella* spp., pueden llegar a infectar a los animales por distintas vías: respiratoria, conjuntiva, digestiva, genital, piel, congénita y trasplante embrionario (Radostits *et al*, 2002).

Patogenia

La *Brucella* se ubica principalmente en el útero grávido, ubre, testículos, glándulas accesorias, linfonódulos y cápsulas articulares; así también infecta células de defensa como fagocitos, polimorfonucleares y mononucleares, de esta manera se mantiene en el tracto reproductor, glándula mamaria y sistema retículo-endotelial (Samartino & Enright, 1993).

Sintomatología

Las bacterias tienen predilección por los órganos reproductivos de machos y hembras directamente relacionadas con la preñez y producción de eritritol en el útero (Rodríguez *et al.*, 2005; Gorvel & Moreno, 2002). Hay una reacción piogranulomatosa en la placenta afectada y el aborto ocurre en la segunda mitad de la gestación. En animales preñados, *Brucella* se replica preferencialmente en trofoblastos placentarios durante la mitad y la última etapa de gestación. Los signos clínicos clásicos son: aborto después del quinto mes de gestación, retención de placenta, metritis, infertilidad, orquitis y epididimitis. La bacteria también coloniza otros órganos como glándulas mamarias, linfonódulos supramamarios siendo excretadas con la leche (Gorvel & Moreno, 2002).

Importancia en la salud pública

Las personas pueden contraer la enfermedad por medio del contacto con animales infectados o por la ingestión de leche cruda de leche de vaca, de oveja o de cabra o sus derivados que contengan gérmenes viables, es decir productos que no hayan pasado por el proceso de pasteurización.

Además los grupos ocupacionales como los trabajadores agrícolas, veterinarios, ganaderos y empleados de camales se consideran de alto riesgo (Tabak *et al.*, 2008).

El número de casos en humanos es subnotificado, es así que en México, los reportes oficiales solamente revelan una tercera parte de su verdadera prevalencia (López, 2002). De acuerdo a la World Animal Health Information Database (WAHID), México es el único país con un alto nivel de personas infectadas por brucelosis (3,75 casos por 100000 habitantes, 3993 casos en el 2005), en otros países de Latinoamérica la importancia de la brucelosis tiene rangos entre 3 y 7.

Diagnóstico

Prueba de Rosa de Bengala

El principio de este método está basado en la aglutinación de antígenos de una suspensión de *Brucella* por anticuerpos presentes en el suero.

Es una de las pruebas más comúnmente usadas; utiliza células completas de *Brucella abortus* cepa 99 o cepa 1199.3 coloreadas con rosa de bengala, a un pH DE 3,65. El pH bajo, previene alguna aglutinación por IgM y estimula la aglutinación por IgG1, reduciendo así interacciones no específicas, considerada útil para el screening individual de animales, aunque puedan aparecer falsos positivos. Anticuerpos resultantes de la vacunación con Cepa 19 de *B. abortus* y algunos anticuerpos que producen reacciones cruzadas son detectados por esta prueba, por lo que es necesario usar otras pruebas para confirmar animales reactivos e infectados. Esta prueba tiene una sensibilidad del 94% y una especificidad del 100% (Nielsen, 2002).

Aglutinación lenta en tubo de Wright en presencia de EDTA (SAT-EDTA)

Esta prueba, basada también en la aglutinación de una suspensión de *Brucella* inactivadas, enfrenta por un lado, una cantidad constante de antígeno, y por otro, diluciones crecientes de suero a investigar. Pone en evidencia las IgM, y en menos grado IgG, y puede ser empleada para detectar infecciones agudas, los títulos de los anticuerpos presentes en el suero, son reportados de forma cuantitativa (Bercovich, 2000).

Dentro de las desventajas de esta prueba, se encuentran: reacciones cruzadas con otras bacterias; así como, a la vacunación. En etapas crónicas de la infección existen resultados falsos negativos (Blood *et al.*, 1987). Se puede observar el fenómeno de prozona (resultados negativos en las primeras diluciones, y positivos en los siguientes).

La incorporación de EDTA a la prueba SAT, disminuye las uniones inespecíficas (Garin *et al.*, 1985).

Esta prueba tiene una sensibilidad del 69 % y una especificidad del 99,2% (Godfroid & Boelaert, 1995).

Factores de riesgo vinculados a la brucelosis bovina

La brucelosis bovina está influenciada por una serie de factores vinculados con las características de la población animal, el manejo, y las características biológicas de la enfermedad, que permiten que la enfermedad se instaure, mantenga y se propague, entre los principales factores de riesgo están: características de la población animal, el manejo que se da a los animales (Salman & Meyer, 1984).

Factores vinculados a las características de la población animal

Edad. La brucelosis afecta a bovinos de toda edad, aunque se desarrolla mayormente en bovinos adultos con relación a los jóvenes, que son menos propensos a contraer la enfermedad (Radostits *et al.*, 2002).

En vacas, la enfermedad se desarrolla de forma subclínica, manifestándose como infección crónica leve hasta que la hembra queda gestante, y el signo principal es el aborto (Luna & Mejía, 1995).

Estado fisiológico. Desde el momento que se cruza una hembra adulta hasta el parto, progresivamente va aumentando su susceptibilidad. Existe una relación directa entre etapa de la gestación y susceptibilidad a la infección (Ortiz *et al.*, 2007).

Raza. Existe una mayor prevalencia de brucelosis en rebaños lecheros en relación a rebaños de ceba, debido al aumento de animales de reemplazo. Inclusive razas más pequeñas como la Jersey son más propensas de enfermarse de brucelosis, que puede ser por una madurez sexual temprana característica especial de la raza. (Omer *et al.*, 2000; Crawford *et al.*, 1990).

Debido a que la prevalencia de brucelosis es más alta en bovinos lecheros, podría atribuirse a que las razas lecheras son más susceptibles. Pero no hay una relación directamente proporcional entre la raza y la posibilidad de enfermarse, porque todas las razas de ganado pueden enfermarse (Luna & Mejía, 1995).

Sexo. Las hembras tienen mayor posibilidad de desarrollar la enfermedad luego de infectarse como terneras (Crawford *et al.*, 1990). El género *Brucella* tiene predilección a vivir en el útero preñado. La hembra preñada es más susceptible en las etapas tardías de la preñez. El eritritol, producto presente en el útero, estimula la tasa de crecimiento de las bacterias de 3 a 5 veces (Blasco & Gamazo, 1994).

Factores relacionados con el manejo de los animales

Convivencia de los bovinos con otras especies animales. Por el sistema de manejo que se da en las distintas regiones, es característico la convivencia de bovinos con otras especies animales, en especial de aquellas que se ha aislado *B. abortus* como: equinos, ovinos y porcinos. (Salman & Meyer, 1984) De igual manera el hato puede infectarse con *B.*

suis o *B. melitensis* cuando utilizan las instalaciones o potreros con porcinos, caprinos, ovinos enfermos. (Acha & Syfres, 2001)

Además la coexistencia de bovinos con varias especies domésticas, representa una fuente potencial de infección, debido a que actúan a manera de reservorios (Reyes *et al*, 2001).

Movilización de animales. El desplazamiento de bovinos de una zona geográfica a otra crea oportunidades para que las enfermedades adscritas a una zona, pueda llegar a desarrollar un problema importante en otra zona sobre todo si son de alta difusión (Flores, 1993)

La diseminación de la brucelosis de un hato a otro y de una zona a otra, en la mayoría de veces se debe al transporte de un animal desde un rebaño infectado a otro no infectado. (Cárdenas *et al.*, 2000; Reyes *et al.*, 2001).

Proximidad de hatos infectados. Se produce en todas las prácticas de manejo que permiten el contacto entre animales de diferentes rebaños, por ejemplo cuando utilizan praderas en común, debido a que la supervivencia de *Brucella* en pastos es de hasta 4 semanas, tiempo en el cual pueden llegar varios predios e infectarse (Blasco & Gamazo, 1994).

Tamaño del hato y densidad de población. En ganaderías grandes, existe una mayor probabilidad de contagio para los animales susceptibles, por tanto una más alta prevalencia de brucelosis, inclusive implica mayores dificultades para tratar de eliminar la enfermedad en la ganadería (Omer *et al.*, 2002)

Generalmente ganaderías grandes conllevan una densidad de población más alta, sobre todo en producción intensiva de leche, al contrario con la producción extensiva de carne en grandes áreas de pastizales. En consecuencia la producción intensiva aumenta el riesgo de exposición,

más que todo luego de un aborto, y se torna imposible aislar a las vacas durante el parto o cuando se presenta el aborto (Nicoletti, 1980).

Uso de áreas para maternidad. La prevalencia de brucelosis disminuye notablemente con el uso de áreas para maternidad durante la lactancia, a causa de una exposición de animales infectados con susceptibles, por tanto menor contacto con material contaminado con *B. abortus* (Radostits *et al.*, 2002).

Uso de inseminación artificial. La brucelosis no es una enfermedad venérea y sólo adquiere importancia si se realiza inseminación artificial, los machos infectados secretan semen que contiene la bacteria y de esta forma si se puede transmitir la infección al realizar la monta natural pero muy raras veces. Inclusive algunos toros enfermos resultan negativos a las pruebas de aglutinación en suero y solo permiten hacer un diagnóstico por aislamiento de la bacteria en semen o prueba de aglutinación en plasma seminal (Samartino, 2003).

Vacunación de los animales. La vacunación de ganado con la cepa 19 ha permitido que la transmisión de brucelosis se reduzca considerablemente y en el campo resulten inmunizados en un 65 a 75 % de animales; el resto de animales pueden contraer la enfermedad, pero casi nunca presentar abortos (Radostits *et al.*, 2002).

En condiciones de baja y alta prevalencia de brucelosis, la inmunidad inducida por la cepa RB51 es altamente efectiva y mejor que la inducida por la cepa 19; cuando se aplica en dosis única a becerras, su efecto protector es similar al vacunar con cepa 19, con la ventaja de que no causa interferencia con las pruebas de diagnóstico serológico. La inmunidad individual y de la ganadería puede incrementar debido a vacunación y revacunación con la cepa RB 51 (Schuring, 1998).

Las ventajas de la vacunación son: Reduce la posibilidad de los animales a contraer la enfermedad y tiende a disminuir su incidencia en la

ganadería, y como resultado menor riesgo de exposición con menos animales eliminando la bacteria (Crawford *et al.*, 1990).

Además, los bovinos que reciben una vacunación correcta, tienen menos probabilidad de enfermarse, por tanto no son fuente de contagio para otros animales, por tanto es un método útil en programas de erradicación.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

Lugar de estudio

El estudio se realizó en la Zona de Planificación 7 (SENPLADES, 2010), integrada por las provincias de Zamora Chinchipe (04°04'09"S; 78°57'24"W), Loja (03°59'35"S; 79°12'15"W) y El Oro (03°16'00"S; 79°58'00"W), conformada por 39 cantones y 191 parroquias rurales distribuidas en un área de 27.440,98 km², que corresponde a 11% del territorio ecuatoriano, con alturas de 0 a 2967 m.s.n.m.

Procedimiento

Esta investigación se llevó a cabo en explotaciones ganaderas, clasificadas en: grandes (más de 70 bovinos), medianas (de 21 a 70 bovinos) y pequeñas (de 1 a 20 bovinos), ubicadas en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro. Mediante convenio entre el Centro Internacional de Zoonosis (CIZ) y el Ministerio de Agricultura, Acuacultura y Pesca (MAGAP), el estudio fue ejecutado en las 3 provincias, 35 cantones y 113 parroquias durante 16 semanas, dentro de las cuales se muestreo un total 504 fincas con la siguiente distribución: 8,13% (n=41) explotaciones grandes, 26,19% (n=132) explotaciones medianas, 65,67% (n=331) explotaciones pequeñas, de las cuales se obtuvieron 3806 muestras de sangre de bovinos.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación es un estudio de tipo transversal, en la cual se obtuvieron datos de prevalencia aparente, utilizando los resultados de las pruebas serológicas: Rosa de Bengala (RB) y Wright en presencia de EDTA (SAT-EDTA) aplicando la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{Número de animales reactivos positivos a las pruebas de brucelosis en un momento dado}}{\text{Total de animales en ese momento}} \times 100$$

Los datos de prevalencia aparente fueron analizados para estudiar varios factores de riesgo de exposición a la enfermedad.

POBLACION Y MUESTRA

El número de fincas y animales muestreados se calculó en base al censo agrícola del año 2000 junto con la base de datos del CIZ, utilizando las siguientes fórmulas (Thrusfield, 2005):

Número de fincas:

$$g = \frac{1,96^2 T_s V_c}{d^2 T_s - 1,96^2 P_{exp}(1 - P_{exp})}$$

Dónde:

g= Número de clúster en la muestra

P_{exp}= Prevalencia esperada

d= Precisión absoluta estimada

T_s=Número total de animales en la muestra

V_c= Variancia entre clúster

$$V_c = c \left\{ \frac{K_1 c V}{T^2(c - 1)} - \frac{K_2 \hat{P} (1 - \hat{P})}{T} \right\}$$

Dónde:

V_c=Variancia entre clúster

c=Número de clúster en la muestra

T=Número total de animales en la muestra

$$K_1 = (C-c)/C$$

C= Número de clúster en la población

$$K_2 = (N-T)/N$$

N=Número total de animales en la población

$$V = \hat{P}^2 (\sum n^2) - 2\hat{P}(\sum nm) + (\sum m^2)$$

\hat{P} =Muestra estimada de la prevalencia total

n=Número de animales muestreados en casa clúster

m=Número de animales enfermos muestreados en cada clúster

Se muestreo a animales mayores de 6 meses de edad machos y hembras sin excepción de raza, escogiendo una proporción como lo explica en la Tabla 4 y 5.

Tabla 4. Número de animales mínimo a muestrear según la cantidad de animales por finca

Número de animales por finca	Porcentaje de animales a muestrear	Número aproximado de animales a muestrear
4 – 6	75%	3 – 4
7 – 15	50%	4 – 7
16 – 30	33%	6 – 11
31- 80	33-25%	11– 20
80-160	25%	20-40
Más 161		40

(Comunicación personal Ron Lenin, 2012)

Tabla 5. Número de animales y fincas muestreadas por provincia

Provincia	Fincas	Animales
Zamora Chinchipe	85	705
Loja	332	2158
El Oro	87	943
TOTAL	504	3806

(Comunicación personal Ron Lenin, 2012)

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Como variable independiente se estudió a la enfermedad (Brucelosis bovina) cuyas variables dependientes fueron: tipo de producción, movilización, reemplazo, sexo, edad, presencia de otras especies de animales, sistema de reproducción, procedencia reproductor, presencia de abortos, destino de abortos, vacunación y densidad poblacional.

TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

La toma de datos se llevó a cabo mediante una entrevista personal con las personas encargadas de las fincas en estudio. La entrevista se realizó mediante una encuesta epidemiológica (ANEXO A), la cual constó de siete partes. (1) Identificación y localización de la explotación, (2) Datos generales de la explotación, (3) Sistema de reproducción, (4) Manejo de los abortos, (5) Manifestaciones clínicas, (6) Diagnóstico, (7) Vacunación. En las fincas muestreadas se procedió a tomar coordenadas geográficas a través de un GPS para ubicar a los casos positivos y realizar la diagramación de un mapa utilizando el programa Manifold versión 8. También se registró el número de arete, nombre, sexo, edad, raza para lo cual se elaboró un registro en el que constan los datos antes mencionados (ANEXO B).

Se tomaron 3806 muestras sanguíneas por punción de la vena coccígea media, en tubos Vacutainer ® de 10 ml, tapa roja identificados correctamente.

El procesamiento de las muestras y el diagnóstico de brucelosis bovina se realizó en el Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), mediante las pruebas serológicas: Rosa de Bengala (RB) y Wright en presencia de EDTA (SAT-EDTA), no se realizó pruebas complementarias como el aislamiento y tipificación del agente bacteriano, además ambas pruebas

RB y SAT-EDTA fueron analizadas en todos los sueros, siguiendo los protocolos que se detallan a continuación.

Prueba Rosa de Bengala (RB)

- Se imprimió la hoja de protocolo y trabajo diario correspondiente a la prueba (ANEXO C).
- Los sueros controles (negativo y positivo), los sueros a diagnosticar y el antígeno (Bengatest®) se mantuvieron a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos antes de realizar la prueba.
- Con la utilización de una pipeta Eppendorf® se depositaron 30μ de los sueros a investigar previamente homogenizados sobre una placa alveolada de vidrio.
- Se depositaron 30μ del antígeno (Ag) junto al suero.
- Se mezclaron el Ag y el suero, utilizando para cada muestra el extremo de un peine plástico.
- Se imprimió a la placa un movimiento horario y anti-horario por 4 minutos.
- Se realizó la lectura de la placa, ayudados por el aglutinoscopio.

Interpretación del resultado

La ausencia o presencia de diferentes grados de aglutinación determinó la positividad o negatividad de la prueba, de la siguiente manera:

Negativo (-): Sin aglutinación

Positivo: + Presencia de aglutinación fina, y formación de un borde rosado poco visible.

++ Aglutinación fina, y formación de un borde fino.

+++ Aglutinación gruesa, traslucidez y formación de un borde definido.

++++ Aglutinación gruesa, formación de un borde bien definido y aclaramiento de la muestra.

Material de laboratorio

- Placas alveoladas de vidrio
- Pipeta automática Eppendorf®, calibrada a 30 µl
- Puntas amarillas, de uso único
- Cuentagotas, calibrado a 30 µl
- Cronómetro
- Aglutinoscopio (caja de madera, provista de una fuente de luz indirecta)
- Vortex peines plásticos desechables
- Lupa
- Estereo-microscopio
- Refrigerador

Reactivo












- Antígeno (Bengaest®) de la casa comercial Synbiotics (Código #ABGT) constituido por *Brucella abortus* biotipo 1 (8% v/v) inactivado (cepa 99 de Weybridge), disperso en un tampón ácido, coloreado con Rosa de Bengala (CIZ, 2008 a).

Aglutinación lenta de Wright en presencia de EDTA (SAT-EDTA)

- Se imprimió la hoja de protocolo y trabajo diario correspondiente a la prueba (ANEXO D).

- Un sistema de diluciones del suero a investigar así como de los sueros controles (negativo y positivo), se efectuó sobre la micropipeta de titulación, de la siguiente forma:

Tabla 6. Procedimiento para la realización de la prueba SAT-EDTA

Pasos	Cúpulas											
	1(*)	2(*)	3(*)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T-SAT-EDTA(**)	168	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Suero a investigar	32											
Paso de dilución (100 µl)												
T-Ag-SAT(**)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Dilución final	1/12.5	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600

(*): Diluciones empleadas en la prueba de rutina

- Se colocó 168 µl de tampón SAT en la cúpula 1 y 100 µl en las cúpulas del 2 al 12 .
- Seguidamente se colocó 32 µl de suero a investigar en la cúpula 1.
- Luego de haber mezclado el contenido de la cúpula 1 (dilución 1/12.5), 100 µl de esta fueron transferidos en la cúpula 2, para de esa forma obtener la dilución 1/25, 100 µl de está fueron transferidos en la cúpula 3 (dilución 1/50) (prueba de rutina).
- En el caso de efectuar la prueba complementaria para la titulación de anticuerpos, las diluciones serán realizadas hasta la cúpula 12 (dilución 1/25600).
- Luego de adicionar 100 µl de solución SAT-Ag, las placas fueron incubadas a 37° C por 20 horas, en una caja plástica con ambiente húmedo.

Interpretación del resultado

La lectura fue realizada, utilizando el dispositivo para la lectura de microplacas de titulación, provista de un espejo en la parte inferior.

Negativo: cuando el antígeno forma en el centro de la cúpula, en punto compacto, con un borde neto, el sobrenadante continúa turbio.

Positivo: cuando se forma una fina capa de sedimento, repartido uniformemente sobre todo el fondo de la cúpula, o cuando existe la formación de una gran zona de sedimentación, rodeada por un espacio de líquido completamente transparente.

Los diferentes porcentajes de aglutinación fueron determinados en comparación con diluciones controles del antígeno, con porcentajes de aglutinación de entre 0,25, 50 y 75 %.

Tabla 7. Relación entre el grado de translucidez, dilución del suero a investigar, y Unidades Internacionales de Aglutinación /ml, según diluciones del suero control positivo

Dilución del suero	Porcentaje de translucidez de la muestra		
	25%	50%	75%
1/12.5	15 UI	20 UI	25 UI
1/25	30 UI	40 UI	50 UI
1/50	60 UI	80 UI	100 UI
1/100	120 UI	160 UI	200 UI
1/200	240 UI	320 UI	400 UI
1/400	480 UI	640 UI	800 UI
1/800	960 UI	1280 UI	1600 UI
1/1600	1920 UI	2560 UI	3200 UI
1/3200	3840 UI	5120 UI	6400 UI
1/6400	7680 UI	10240 UI	12800 UI
1/12800	15360 UI	20480 UI	25600 UI
1/25600	30720 UI	40960 UI	51200 UI

UI: Unidades Internacionales de Aglutinación

Nota: Punto a partir del cual las muestras son consideradas positivas para bovinos (Cut off)= 30 UI.

Material de laboratorio

- Estufa
- Micropipetas automáticas (10-100 µl y 100 a 100 µl).

- Microplacas de titulación de fondo en U.
- Refrigerador.

Reactivo

- Diluyente SAT-EDTA
- El antígeno SAT utilizado es una suspensión concentrado de *Brucella abortus* inactivada en tampón fenolado. El antígeno será diluido en Tampón SAT-EDTA (CIZ, 2008 b).

Con los resultados obtenidos de las pruebas serológicas se realizó los análisis, que nos mostraron cual es la situación de esta enfermedad en estas provincias.

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos de la encuesta epidemiológica y registros, fueron incorporados en una base de datos en el programa Excel 2010. Para determinar el intervalo de confianza para la prevalencia aparente, se utilizó la aproximación a la distribución normal del estadístico de estimación con el software estadístico “R” versión 2.15.2. La asociación de factores de riesgo, con presencia o ausencia de enfermedad fue determinada a través del test exacto de Fisher; para determinar los posibles factores de riesgo se utilizó el Odds ratio (OR) como medida de riesgo. Los resultados obtenidos de la prueba serológicas Rosa Bengala y SAT-EDTA fueron comparados con las variables de estudio por finca (tipo de producción, reemplazo, convivencia otros animales, sistema de reproducción, procedencia reproductor, abortos, destino abortos, vacunación, densidad poblacional) y por animal (sexo, edad, raza, vacunación, abortos).

CAPITULO IV

RESULTADOS

El presente estudio se realizó en las provincias de: Zamora Chinchipe, Loja y El Oro del Ecuador, como indica en el Gráfico 1.

En el Gráfico 2, se puede observar los puntos tomados mediante GPS, que permiten apreciar en el mapa la distribución uniforme de las explotaciones visitadas en las zonas ganaderas de cada una de las provincias.

Así como también muestra las categorías de explotación en grandes, medianas y pequeñas. A su vez que las fincas de la provincia de El Oro que fueron identificadas como positivas.



Gráfico 1. Zona de estudio

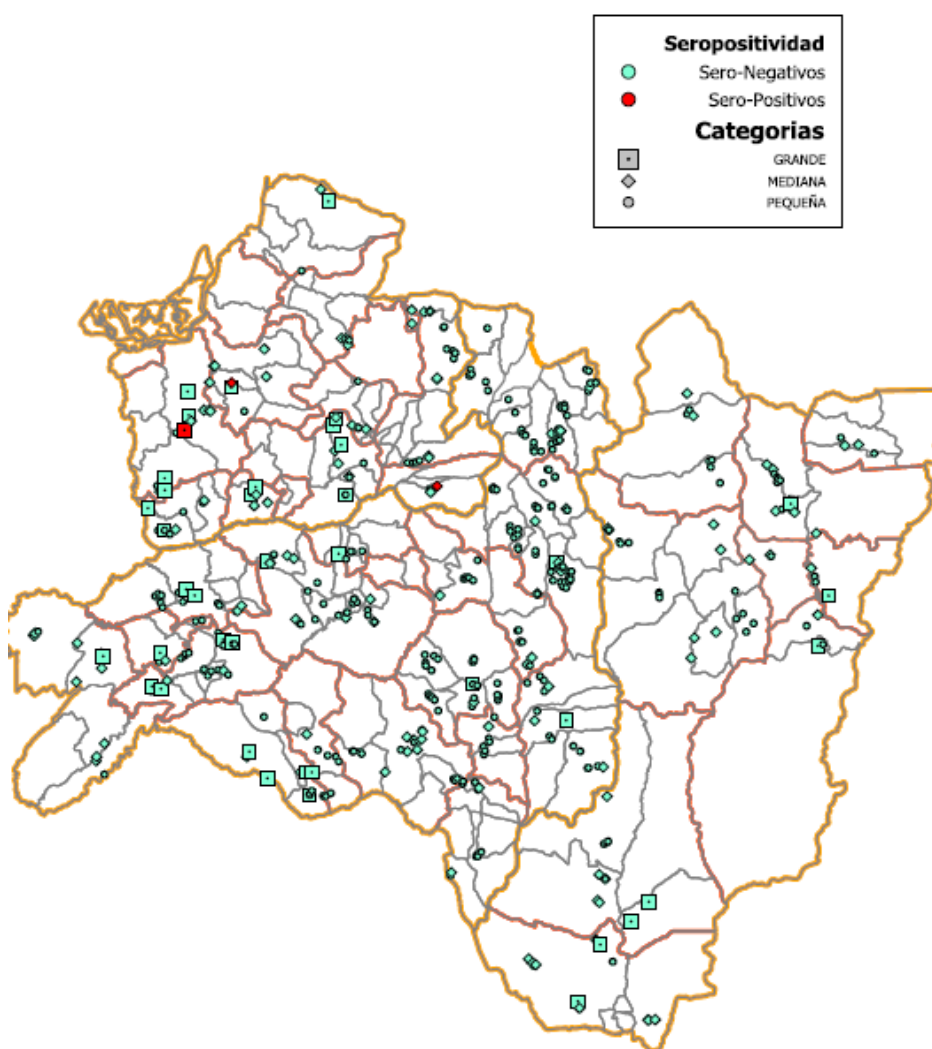


Gráfico 2. Localización y estimación de seropositividad por fincas en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro

Elaboración: Los Autores

a) Estimación de la prevalencia aparente para las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro

En las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro, el presente estudio determinó una prevalencia aparente de brucelosis bovina del 0,59 % (3/504) con I.C. al 95% [0.154 - 1.88] en las fincas muestreadas. Así también del 0,079% (3/3806) I.C._{95%} [0.02 - 0.25] en la población bovina muestreada.

b) Estimación de la prevalencia aparente por provincias

En la provincia de El Oro, los resultados de esta investigación estimaron una prevalencia aparente de brucelosis bovina de 3,45% (3/87) I.C._{95%} [0.89 - 10,45] a nivel de fincas y 0,32% (3/943) I.C._{95%} [0.08 - 1.01] a nivel de bovinos; mientras que, para la provincia de Zamora Chinchipe y la provincia de Loja fue de 0%, respectivamente.

c) Resultados de las pruebas serológicas en bovinos

Al analizar las 3806 muestras, a través de la prueba Rosa de Bengala, se obtuvo un total de 3 (0,079%) muestras positivas que presentaron anticuerpos contra *Brucella* spp. pertenecientes solo a la provincia de El Oro; de las cuales 1 se encontró en explotaciones grandes y 2 en explotaciones medianas y ninguna correspondiente a explotaciones pequeñas.

Dentro de los 3 sueros positivos a RB, 2 (0,053%) sueros fueron positivos a SAT-EDTA, mismos que fueron localizados en explotaciones medianas (ver Tabla 8).

Tabla 8. Comparación de resultados RB y SAT-EDTA en el total de animales muestreados

Pruebas Diagnósticas		
RB	SAT-EDTA	Total
+	+	2
+	-	1
-	+	0
-	-	3803
TOTAL		3806

RB (Rosa de Bengala), SAT-EDTA (Seroaglutinación lenta en tubo – EDTA)

Elaboración: Los Autores

En la Tabla 9. se puede observar las características de cada uno de los animales positivos a las pruebas diagnósticas. Los tres bovinos pertenecientes a la provincia de El Oro, son hembras, una de 18 y dos de 48 meses de edad, ninguna ha presentado abortos, y sólo una ha sido vacunada para brucelosis resultando negativa a la prueba SAT-EDTA, los dos bovinos restantes han sido positivos a las dos pruebas sin haber sido vacunadas para brucelosis.

Tabla 9. Características de los 3 animales seropositivos a las pruebas de diagnóstico en la provincia de El Oro

Características	Bovino 1	Bovino 2	Bovino 3
Sexo	H	H	H
Edad**	48	18	48
Vacunación para brucelosis	NO	SI	NO
Presencia de abortos	NO	NO	NO
RB	POS (++)	POS (++)	POS (++++)
SAT-EDTA	POS (50 UI)	NEG (25 UI)	POS (960 UI)

*H= Hembra; POS=Positivo; NEG=Negativo; UI= Unidades Internacionales

**meses

Elaboración: Los Autores

A continuación se detallan las características de los predios positivos en la Tabla 10.

Tabla 10. Descripción de las tres explotaciones ganaderas positivas en la provincia de El Oro

Características	Finca 1	Finca 2	Finca 3
Cantón	Santa Rosa	Portovelo	Arenillas
Parroquia	Santa Rosa	Salati	Arenillas
Localidad	Bellavista	Las Trancas	Vía Palmares
Categoría de explotación	Mediana	Mediana	Grande
Superficie Pastos	NA	4	90
Tipo de producción	Leche	Leche	Carne
Moviliza bovinos a otras propiedades	No	No	No
Certificado para Brucelosis	No	No	No
Procedencia de reemplazos	Propios	Otra propiedad	NA
Tipo de ordeño	Mecánico	Manual	No ordeña
Destino de la leche	Pasteurizadora	Upa	NA
Animales tipo lechero	47	32	0
Animales tipo carne	0	0	272
Densidad del hato (Bovinos/Ha)	NA	8,00	3,02
Presencia de otras especies	Si	No	No
Perros	4	0	0
Gatos	3	0	0
Caballos	2	0	0
Aves	50	0	0
Sistema de reproducción	Monta Natural	Monta Natural	Monta Natural
Procedencia del reproductor	Propio	Propio	Propio
Antecedentes de abortos en el último año	Si	No	No
Destino del producto del aborto	Campo	Campo	Campo
Veterinario permanente	No	No	No
Conoce la brucelosis	Si	Si	No
Pruebas de diagnóstico para brucelosis	No	No	No
Vacunación para brucelosis	Si	Si	Si

NA=No hay información Upa: Unidad de producción agropecuaria

Elaboración: Los Autores

d) Resultados del análisis de factores de riesgo en fincas y animales

Los resultados obtenidos de la encuesta sobre factores de riesgo permitieron determinar lo siguiente que al relacionar las diferentes variables no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p\text{-valor} < 0,05$) entre la seropositividad a brucelosis a nivel de fincas por: el tipo de producción, categorías de explotación, la procedencia de reemplazos, convivencia con otras especies animales, sistema de reproducción, procedencia del toro, abortos, destino del producto del aborto, densidad poblacional. Sin embargo, solo se encontró una alta diferencia significativa ($p\text{-valor} = 0,0003$) entre la seropositividad a brucelosis y la vacunación a nivel de fincas (ver Tabla 11).

Así mismo, en la Tabla 12 no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p\text{-valor} < 0,05$) entre la seropositividad a brucelosis a nivel de bovinos con: sexo, edad, raza, vacunación, presencia de abortos. No se pudo establecer factores de riesgo, debido a que la información obtenida fue escasa por el bajo número de reactores positivos.

Tabla 11. Factores de riesgo investigados para Brucelosis en Zamora Chinchipe, Loja y El Oro a nivel de fincas

FACTOR DE RIESGO		Número de fincas	Prevalencia	IC _{95%}	p-valor	OR	IC _{95%} OR
Tipo de Producción*	Leche	317	2	0,63%	0.1-2.5	0.330	0.014 - 16.852
	Carne	45	1	2,22%	0.1-13.2	---	---
Categorías de Explotación**	Grande	41	1	2,44%	0.13-14.4	0.558	0.027- 31.858
	Mediana	132	2	1,52%	0.26-5.9	---	---
Procedencia de Reemplazos	Propios	359	1	0,28%	0.0-1.7	0.200	0.003 - 3.878
	Otra Propiedad	145	2	1,38%	0.20-5.4	---	---
Convivencia con otras especies animales	Sí	391	1	0,26%	0.0-1.6	0.396	0.004 - 22.541
	No	113	2	1,77%	0.3-6.8	---	---
Sistema de Reproducción	Monta natural	424	3	0,71%	0.10-2.2	1	0.000 - 12.901
	Inseminación y otras	80	0	0,00%	0.0-5.7	---	---
Procedencia del Toro	Propio	361	3	0,83%	0.2-2.6	0.562	0.000 - 6.118
	Alquila	143	0	0,00%	0.0-3.2	---	---
Abortos	Sí	151	1	0,66%	0.0-4.1	1	0.020 - 22.628
	No	353	2	0,57%	0.0-2.2	---	---
Destino de los abortos***	Campo	116	3	2,59%	0.6-7.9	---	---
	Entierra	31	0	0,00%	0.0-13.7	1	0.000 - 9.165
Vacunación	Si	35	3	8,57%	2.20-24.1	---	---
	No	469	0	0,00%	0.0-1.0	0.0003	0.000 - 0.174
Densidad Poblacional ****	Alta	108	1	0,93%	0.0-5.8	0.409	0.042 - 262.782
	Baja	359	1	0,28%	0.0-1.8	---	---

IC= Intervalo de Confianza; p-valor= Error menor 0,05%; OR= Odds Ratio

* Para el cálculo de OR se utilizó solamente las variables leche y carne, no se tomó en cuenta a fincas mixtas.

** Para el cálculo de OR se utilizó solamente las variables grande y mediana, no se tomó en cuenta a fincas pequeñas.

*** Para el cálculo de OR se utilizó solamente las variables campo y entierra, no se tomó en cuenta a otro tipo de destino del aborto.

**** Para el cálculo de OR se utilizó solamente datos de fincas en las que información fue adquirida. No hay información de todas las fincas.

Elaboración: Los Autores

Tabla 12. Factores de riesgo investigados para Brucelosis en Zamora Chinchipe, Loja y El Oro a nivel de animales

FACTOR DE RIESGO		# animales	Prevalencia		IC _{95%}	p-valor	OR	IC _{95%} OR
Sexo*	Macho	411	0	0,00%	0.0-1.2	1	0	0-19.230
	Hembra	3261	3	0,09%	0.02-0.29	--	---	---
Edad	Joven	768	1	0,13%	0.068- 0.841	0.492	1.98	0.034-38.088
	Adulto	3038	2	0,07%	0.01-0.26	---	---	---
Raza	Leche	3271	2	0,06%	0.01-0.24	0.365	0.33	0.017-19.310
	Carne	535	1	0,19%	0,0098-1.204	---	---	---
Animal vacunado	Si	99	1	1,01%	0.05-6.30	0.076	1.88	0.317-363.696
	No	3707	2	0,05%	0,0094-0.217	---	---	---
Animal que han abortado	Si	38	0	0,00%	0.0-11.4	1	0	0-43.196
	No	3768	3	0,08%	0.02-0.25	---	---	---

IC= Intervalo de Confianza; p-valor= Error menor 0,05%; OR= Odds Ratio

* Para el cálculo de OR se utilizó datos de machos y hembras que fueron identificados en los registros, hay 134 animales en las que la información es desconocida debido al deterioro de los registros.

Elaboración: Los Autores

DISCUSIÓN

En este estudio se encontraron mediante la prueba RB y SAT- EDTA, considerando reactor positivo aquellos bovinos, que presenten por lo menos un resultado positivo a una de las dos pruebas. Es así que las prevalencias encontradas son de 0,32% (3/943; I.C. _{95%} 0.08 - 1.01) para la provincia de El Oro y 0% para las otras provincias en estudio. Estos resultados difieren con los obtenidos mediante las pruebas de aglutinación rápida en placa del Programa Nacional de Sanidad Animal (PNSA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) del año 1979 (SESA-MAG, 1979), en los que se estableció una prevalencia de 5% (51/1212; I.C. _{95%} 3,78-6,22) para la provincia de El Oro, 2% (18/2050; I.C._{95%} 1,40-2,60) para la provincia de Loja, mientras que para Zamora Chinchipe no fue considerada en este estudio; por lo tanto, la presente investigación es la primera que se realiza en esta provincia.

El PNSA del MAG incluyó a la provincia de El Oro dentro de la región de alta prevalencia (4,2%-10,62%), mientras que la provincia de Loja (1,3%-2,6%) fue caracterizada como de baja prevalencia en la región correspondiente (SESA-MAG, 1979).

La diferencia con los resultados del año 1979 pueden deberse a que la prueba utilizada fue considerada de baja especificidad (Blood *et al.*, 1987; Gardner *et al.*, 2000), por lo cual se obtuvo una mayor número de casos positivos. La baja especificidad, puede ocasionar el aumento del número de falsos positivos (Trusfield , 2005) que las prueba de RB y SAT-EDTA.

En este estudio, para tener un valor de prevalencia confiable se utilizaron métodos de diagnóstico de alta sensibilidad (RB 94%, SAT-EDTA, 69%) y especificidad (RB 100%, SAT-EDTA, 99,2%) recomendados por la OIE (OIE, 2012; Nielsen, 2002; Godfroid & Boelaert, 1995), así como un

control de calidad de reactivos, utilizando protocolos estandarizados y el criterio de especialistas en brucelosis.

Los tres bovinos reactores positivos pertenecen a la provincia de El Oro y provienen de fincas donde, según la encuesta, en algún momento se realizó la vacunación de los animales para prevenir la brucelosis; sin embargo, en el momento del muestreo, sólo uno de los bovinos positivos fue registrado como vacunado con cepa 19; ello podría implicar que probablemente este individuo fue reactor positivo debido a la vacunación. Según Schuring (1998), puede interferir con las pruebas de diagnóstico empleadas en este estudio, por lo tanto este animal podría ser considerado como un falso positivo.

Según Nicoletti (1980), las ganaderías grandes y la densidad poblacional alta, ha sido reportada como factor de riesgo favorecedor de la enfermedad. En este estudio, los animales positivos provienen de áreas donde están presentes estos factores de riesgo, los cuales podrían ser la causa para que se haya encontrado la enfermedad. Del mismo modo, según Cárdenas *et al.* (2000) y Reyes *et al.* (2001) la comercialización y movilización de ganado crea oportunidades para que las enfermedades adscritas a una zona o una región o incluso un país, pueda desarrollar un problemas sanitarios en zona donde la enfermedad es ausente o de baja endemidad.. Es así que, en este trabajo se evidenció que la movilización de bovinos y otros animales desde otras provincias con alta prevalencia de brucelosis como Manabí y Guayas (resultados preliminares encuesta nacional) que pudieron haber influido en el resultado.

Pese a que las provincias de Zamora Chinchipe y Loja cuentan con todos los factores de riesgo que predisponen a la presencia de la enfermedad, no se encontraron animales reactores positivos. Probablemente se deba al sistemas de pastoreo predominante existente a campo abierto, en potreros, rastrojos y/o al sogueo, además de registrar una densidad animal baja, sumado a los procesos de comercialización que se realizan internamente dentro de cada una de las provincias, lo que resulta en una

escasa movilización de ganado desde las provincias de la Sierra central o de la Costa en las que se ha encontrado una alta prevalencia de brucelosis (Miño & Pico, 2003; Angulo & Tufiño, 2005 ;Ron, 2003).

Según las encuestas, realizadas en este estudio, los bovinos reactores positivos (ver tabla 8), viven en áreas que presentan los factores de riesgo para la enfermedad. Según Luna & Mejía (1995) y Ensminger (1987), la brucelosis no siempre causa aborto, consecuentemente, los animales positivos, pese a tener la enfermedad no abortan, presentando una enfermedad subclínica. La presencia de la brucelosis en esta zona, probablemente se deba a que se contagiaron por la introducción de animales, aparentemente sanos, que difundieron la enfermedad en el hato. Por otro lado, hay que considerar que el diseño experimental propuesto en este estudio, permite determinar la prevalencia hasta nivel de finca; consecuentemente, el número de animales muestreados dio información que no abarcó grandes poblaciones animales. Esta podría ser una explicación del número bajo de animales seropositivos encontrados en este estudio.

En la provincia de Loja se han realizado estudios de brucelosis en otras especies (caprinos) utilizando los mismos métodos de diagnóstico aplicados en este estudio, RB y SAT-EDTA (Ron, comunicación personal, 2013), los resultados de los mismos dieron respuestas negativas en Zapotillo-Loja. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en este estudio, debemos tomar en cuenta que la especie caprina es una especie sensible a la bacteria (reservorio de *Brucella spp.*) y al no haber encontrado reactores positivos podemos pensar que la brucelosis no es circulante en esta zona del país.

Otros estudios realizados en la región Costa (Angulo & Tufiño, 2005) y Sierra (Miño & Pico, 2003; Ron, 2003) utilizando la misma metodología de muestreo por conglomerados y métodos de diagnóstico similares a los nuestros (RB, SAT-EDTA), siguiendo el mismo protocolo, podemos considerar claramente que la región sierra central (Cantón Mejía:

prevalencia 13,27-32,11% (Miño & Pico, 2003) y 15-45% en bovinos no vacunados (Ron, 2003)) es una región de alta prevalencia mientras que la región Costa sería una zona de menor prevalencia (Prevalencia: 1,08-9,73% El Carmen y Santo Domingo 2,17-9,4% (Angulo & Tufiño, 2005)), aun así, en estos estudios se obtuvieron prevalencias más altas que en el presente trabajo, esto puede deberse a que los lugares donde se realizaron aquellas investigaciones tienen intensa comercialización y movilización de ganado y ganaderías con una densidad animal alta.

La realización de la encuesta epidemiológica, no permitió cuantificar efecto de posibles factores de riesgo mediante test exacto de Fisher y OR, en la infección por brucelosis debido al escaso número de reactores positivos en una población grande muestreada. Estadísticamente solo se encontró una diferencia altamente significativa a la vacunación a nivel de fincas, en contraste con el análisis estadístico a nivel de animales, esto debido a que la vacunación no abarcó el número total de animales presentes en cada una de las fincas donde se realizó el estudio.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Sobre 3806 animales y 504 fincas muestreadas en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro se determinó una prevalencia de brucelosis por animal y por finca de 0.079% y 0.59% respectivamente.
- La prevalencia aparente para la provincia de El Oro fue de 0,32%. En las provincias de Zamora Chinchipe y Loja no se encontraron reactores positivos a *Brucella spp.*
- No se pudo identificar factores de riesgo en la zona debido al bajo número de reactores positivos a la enfermedad. Sin embargo la vacunación, de acuerdo al análisis estadístico, si es un factor de riesgo a nivel de fincas que influye para que se presenten un mayor número de reactores positivos.

RECOMENDACIONES

- Sacrificio sanitario a los bovinos con reacción positiva a brucelosis en la presente investigación, para evitar posible contagio y diseminación de la enfermedad en la zona.
- Realizar pruebas confirmatorias, como el aislamiento y tipificación del agente causal, para su posterior conocimiento y reporte a las autoridades sanitarias competentes.
- Seguimiento y vigilancia epidemiológica de la enfermedad mediante screening periódicos.
- Capacitación a veterinarios, productores, consumidores y trabajadores pecuarios en el conocimiento de esta enfermedad.

REFERENCIAS

1. Acha, P., & Szyfres, B. (2001). Brucelosis. En *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (3ra ed., Vol. I, págs. 28-33). Washington: Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud.
2. Alton, G., & Forsyth, J. (2007). *Brucelosis*. Obtenido de El centro para la seguridad alimentaria y la salud pública: <http://gsbs.utmb.edu/edu/microbook/ch028.htm>
3. Alvarado, C. (1959). *Índice brucelósico en bovinos del cantón Zaruma. (Tesis)*. Quito: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador.
4. Álvarez, P. (2001). Situación de la brucelosis en América: panorama general. En E. Díaz, L. Hernández, G. Valero, & B. Arellano, *Diagnóstico de Brucelosis Animal*. (págs. 9-16). México: Editors.
5. Angulo, O., & Tufiño A. (2005) *Determinación de la inmuno prevalencia en explotaciones ganaderas de los cantones Santo Domingo y El Carmen. (Tesis)*. Quito: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador.
6. Aréstegui, M., Gualtieri, C., Domínguez, J., & Scharovsky, G. (2001). El Género *Brucella* y su interacción con el Sistema Mononuclear Fagocítico. En U. N. México (Ed.). México: Veterinaria México.
7. Bercovich, Z. (2000). The use of skin delayed-type hypersensitivity as adjunct test to diagnose brucellosis in cattle. *Veterinary Quartely* , 123-130.
8. Blasco, J., & Gamazo, C. (1994). *Brucelosis Animal*. Obtenido de Investigación y Ciencia: <http://coli.usal.es/web/educativo/articulos/art07/art07.htm>
9. Blood, D., Henderson, J., & Radostits, O. (1987). Enfermedades causadas por diversas especies de *Brucella*. En *Medicina Veterinaria* (págs. 522-540). México: Interamericana.
10. Boelaert, & Godfroid. (1995). Prescriptions pour le diagnostic serologique de la brucellose. Bélgica.

11. Brooks, G., Butel, J., & Morse, S. (2008). Haemófilus, Bordetella, Brucella, Francisella. En *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Aldelberg* (págs. 298-300). México: Manual Moderno.
12. Castro, H., González, S., & Prat, N. (2005). *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. Obtenido de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0325-29572005000200008#tabla2
13. Chauvin, P. (1969). *Diagnóstico de brucelosis en bovinos de la provincia de Loja, por el método cromatográfico de Castañeda, controlado por el método de Huddleson. (Tesis)*. Loja: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Loja.
14. CIZ. (2008 a). Manual de procedimiento de la Prueba Rosa de Bengala, aglutinación rápida en placa o prueba del antígeno brucelar amortiguado (SOP/SER/Br/RB). 1, 1-7. Quito, Ecuador: Centro Intencional de Zoonosis.
15. CIZ. (2008 b). Manual de procedimiento de la prueba Aglutinación lenta de Wright SAT-EDTA (SOP/SER/Br/SAT). 1, 1-7. Quito, Ecuador: Centro Internacional de Zoonosis.
16. Corbel, M. (1997). Brucelosis: una visión general. *Enfermedades infecciosas emergentes*, III (2), 213-221.
17. Crawford, R., Huber, J., & Adams, B. (1990). Epidemiology and surveillance. En K. Nielsen, & J. Dunca, *Animal brucellosis* (págs. 131-151). Florida: CRC Press.
18. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G., & Arellano, B. (2001). Diagnóstico de Brucelosis Animal. En *Microbiología Animal* (pág. 221). México: Inifap-Sagar.
19. Ensminger, M. (1987). Brucelosis (Bangs Disease). *Beef cattle Science Interstate Printers & Publishers. Inc. Illinois*, 442-445.
20. Flores, C. (1993). Los procesos infecciosos en bovinos como limitantes de la producción y del intercambio comercial. *Memorias del XVI Simposio de Ganadería Tropical* (págs. 118-123). México: Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.
21. Gardner, I., Stryhn, H., Ind, P., & Collins, M. (2000). Conditional dependence between tests affects the diagnosis and surveillance of animal diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 45, 61-81.

22. Garin, B., Trap, D., & Gaumont, R. (1985). Assessment of the EDTA seroagglutination test for the diagnosis of bovine brucellosis. *Vet. Rec* (117), 444-445.
23. Gil, A., & Samartino, L. (2000). Zoonosis en los sistemas de producción animal en las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. *Food and Agriculture Organization. Livestock Information and Policy Branch, AGAL.* , 1-65.
24. Godfroid, J., Scholzcc, H., Barbier, T., Nicolas, C., Wattiau, P., Fretin, D., y otros. (2011). Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Preventive Veterinary Medicine* (2954), 1-14.
25. Gorvel, J. P., & Moreno, E. (2002). Brucella intracellular life: from invasión to intracellular replication. *Veterinary microbiology* (90), 281-297.
26. Konemam, E. (2004). Bacilos Gram Negativos. En E. Konemam, S. Allen, P. Janda, Schreckenberger., & W. Winn, *Diagnóstico Microbilógico* (págs. 424-430). Buenos Aires: Médica Panamericana.
27. López-Merino, A. (2002). *Brucella*. Obtenido de www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap7/. México
28. Luna, J., & Mejía, C. (1995). Manual de actualización técnica para la aprobación de médico veterinario en tuberculosis bovina y brucelosis. México: Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Comisión Nacional para la erradicación de la tuberculosis bovina y brucelosis, Colegio Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas de México.
29. MAGAP, & AGROCALIDAD. (2009). *Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina*. Obtenido de http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf
30. Michaux, S., Bourg, G., Jumas, E., Guigue, P., Allardent, A., O'Callaghan, D., y otros. (1997). Estructura del genoma y la filogenia del género Brucella. *J Bacteriol* , 3244-3249.
31. Miño, E., & Pico, F. (2003). *Estudio de la presencia de brucelosis bovina, en explotaciones ganaderas del Cantón Mejía (Tesis)*.

Quito: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador.

32. Moriyón, I., Díaz, R., & López, I. (2001). Bacteriología del género *Brucella*. En T. Rodríguez, A. Orduña, X. Ariza, I. Moriyón, R. Díaz, J. Blasco, y otros, *Manual de brucelosis* (págs. 21-30). España: Junta de Castilla y León.
33. Nicoletti, P. (1980). The epidemiology of bovine brucellosis. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* (24), 69-98.
34. Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol.* (90), 447-459.
35. Nieto, E. (1981). *Investigación y diagnóstico de brucelosis en las ganaderías bovinas de los cantones Santa Rosa y Arenillas de la provincia de El Oro, mediante la prueba de ring test. (Tesis)*. Guayaquil: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guayaquil.
36. OIE. (2009). *Brucelosis aspectos generales de la enfermedad*. Obtenido de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf>
37. OIE. (2012). *Brucelosis bovina*. Obtenido de Fichas de información generales sobre enfermedades animales: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BCLS-ES.pdf
38. Olleagué, O. (1969). *Determinación de la incidencia de la brucelosis por medio de la prueba "ring test", en las ganaderías de la provincia de El Oro. (Tesis)*. Guayaquil: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Estatal de Guayaquil.
39. Omer, M., Skjerve, E., Woldehiwet, Z., & Holstad, G. (2000). Risk factors for *Brucella* spp infection dairy cattle farms in Asmar, State of Eritrea. *Preventive Veterinary Medicine* (46), 257-265.
40. OPS. (2005). 14ª Reunión interamericana a nivel ministerio en salud y agricultura. *Las enfermedades desatendidas en las poblaciones postergadas con énfasis en las zoonosis* (págs. 5-12). México: OPS-OMS.
41. Ortiz, E., Cabrera, E., & Izquierdo, M. (2007). Normalización y evaluación del inmunoensayo ABICAP- BRU para el diagnóstico

serológico de la brucelosis bovina. *Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil, Veterinaria Organización* , VII (4).

42. Quinde, P. (1959). *Diagnóstico de la brucelosis bovina de la hoya de Loja. (Tesis)*. Loja: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Loja.
43. Radostits, O., Gay, C., Blood, D., & Hinchcliff, K. (2002). Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. En *Medicina veterinaria* (Vol. I, págs. 1025-1042). España: McGraw-Hill Interamericana.
44. Reyes, J., Olivera, J., Jaramillo, M., Villa, A., Preciado, A., & Delgadillo, J. (2001). Prevalencia de brucelosis en hatos lecheros de traspato en una comunida de la Sierra Nevada. *2do Congreso Internacional de Epidemiología* (págs. 343-347). México: Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria.
45. Rodríguez, A., Orduña, A., Ariza, X., Moriyón, I., Díaz, R., Blasco, J., et al. (2001). Manual de Brucelosis. In J. d. León (Ed.). España: Herald de Zamora.
46. Rodríguez, Y., Ramírez, W., Antúnez, G., Pérez, s., Ramírez, Y., & Igarza, A. (2005). Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. *Revista Veterinaria REDVET* , VI, 1-9.
47. Ron, J. (26 de Noviembre de 2012). Anticuerpos que detectan las pruebas Rosa de Bengala y SAT-EDTA. (R. Díaz, & O. Lamiña, Entrevistadores)
48. Ron, J. (2003). *Validación de técnicas Diagnósticas para la detección de brucelosis y estudio epidemiológico en una región andina del Ecuador (Tesis presentada para la obtención del grado de Master en Ciencias en Salud Animal)*. Amberes-Bélgica: Instituto de medicina Tropical Prince Léopold. Departamento de Sanidad Animal Tropical Thesis No 118.
49. Ron, J., & Benítez, W. (2005). Brucelosis Bovina. *Mundo Veterinario* (5), 10-11.
50. Ron, J., Vizcaíno, L., Celi, M., & Benítez, W. (2012). Identificación de factores de riesgo y determinación de la seropresencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. en trabajadores de explotaciones ganaderas del Cantón Mejía. *ANALES* , 63-73.

51. Ron, L. (2012). Muestreo Encuesta Epidemiológica de Brucelosis, Tuerculosis y Garrapatas. (R. Díaz, & O. Lamiña, Entrevistadores)
52. Ruiz- Castañeda, M. (1954). Brucelosis, un problema universal. *La prensa médica mexicana*. México .
53. Salman, M., & Meyer, M. (1984). Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley. (A. J. Res., Ed.) (45), 1557-1559.
54. Samartino, L., & Enright, F. (1993). Pathogenesis of abortion of Bovine brucellosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* (16), 95-101.
55. Samartino, L., Salustio, E., & Gregoret, R. (2003). *Evaluación de la vacuna RB51 de Brucella abortus en hembras bovinas preñadas*. Jornada de actualización sobre brucelosis bovina.
56. Sbriglio, J., Sbriglio, H., & Sainz, S. (2007). Brucelosis una patología generalmente subdiagnosticada en humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. *Bioanálisis* , 19-22.
57. Scholz, H. C., Nockler, K., Gollner, C., Bahn, P., Vergnaud, G., Tomaso, H., y otros. (2010). Brucella sp inopinata. noviembre, aislado de una infección del implante de mama. *Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva* (60), 801-808.
58. Schuring, G. (1998). Brucelosis y Vacuna B. Abortus RB51. *III Foro Nacional de Brucelosis*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
59. Schuring, G., Sriranganathan, N., & Corbel, M. (2002). Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet Microbiol* (90), 479 – 496.
60. Segarra, G. (1971). *Investigación de brucelosis en bovinos de Loja, por los métodos de "Ring test" y Huddleson. (Tesis)*. Loja: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Loja.
61. SENPLADES. (2010). *Agenda Zonal para El Buen Vivir Propuestas de Desarrollo y Lineamientos para el Ordenamiento Territorial*. (I. M. Moreno, Ed.) Obtenido de http://plan.senplades.gob.ec/c/document_library/get_file?uuid=c0a441e7-940c-4601-81e2-6a2944b570d0&groupId=10136

62. SESA-MAG. (1979). *Diseño y estudio de prevalencia de Brucelosis Bovina en las provincias de la Costa y de la Sierra Ecuatoriana*. Quito: MAG.
63. Smith, H., A., & Jones, T. (1980). En *Patología Veterinaria* (págs. 387-390). México: Uteha.
64. Sota, M., Bagnat, E., Consentino, B., & Nicola, A. (2006). Aproximación a la Determinación de la Prevalencia Nacional de la Brucelosis Bovina. *Revista del Colegio de Veterinarios de Buenos Aires*, 31-35.
65. Tabak, F., Hakko, E., Mete, B., Ozaras, R., Mert, A., & Ozturk, R. (2008). Is family screening necessary in brucellosis. *Infection* 36, 575-577.
66. Trusfield, M. (2005). Surveys. En *Veterinary Epidemiology* (págs. 228-243). USA: Blackwell Science Ltd.
67. Valdivieso, C. (1969). *Determinación de la incidencia de brucelosis por medio de la prueba de sero-aglutinación en placa, en las ganaderías de la zona de Machala. (Tesis)*. Guayaquil: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Estatal de Guayaquil.
68. Young, E. (1997). Especies de Brucella. En G. Mandell, J. Benett, R. Dolin, & Editors, *Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas* (págs. 2301-2307). Buenos Aires: Médica Panamericana.

ANEXOS

Anexo A

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA BRUCELOSIS



MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, ACUACULTURA Y PESCA

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

CENTRO INTERNACIONAL DE ZOONOSIS (CIZ)

ENCUESTA DE LA EXPLOTACION (UPA)

BRUCELOSIS

IDENTIFICACION Y LOCALIZACION DE LA EXPLOTACION

No. general encuesta: ____/____/____

Coordenadas GPS (gg/mm/ss): latitud _____ longitud _____ Altitud (msnm): _____

Código de la UPA (provincia/cantón/parroquia/tipo de finca/número): ____/____/____/____/____

Fecha: ____/____/20____ Nombre del Encuestador: _____

Nombre de la explotación (UPA): _____ Propietario: _____

Teléfono: ____/____/____/____/____/____ Celular: ____/____/____/____/____/____

Provincia: _____ Cantón: _____ Parroquia: _____

Localidad: _____

Nombre de la persona encuestada: _____ Edad: _____

Teléfono: ____/____/____/____/____/____ Celular: ____/____/____/____/____/____

Cargo: _____ Años de trabajo en la UPA: _____

Nombre del médico veterinario responsable de la sanidad de la explotación: _____

Realiza control veterinario permanente?

Si: ☐ No: ☐

Datos Generales de la Explotación

1. ¿Cuál es la superficie total de la explotación? _____ (hectáreas)

2. ¿Cuál es la superficie de pastos? _____(hectáreas)

3. ¿Bajo qué condición de pertenencia consta esta propiedad?

Propio ☐ Arrendado ☐ Comodato ☐ al partir ☐ Estatal ☐

4. ¿Qué tipo de producción bovina tiene su finca?

Leche ☐ Carne ☐ Mixta ☐ Animales de trabajo: ☐ Sementales ☐

5. Inventario total de Bovinos para LECHE: ____/____/____

Terneros (0 a 6 meses) : ____/____/____ Vacas (rejo y seco): ____/____/____

Fierros y medias (7 a 20 meses): ____/____/____ Toretes: ____/____/____

Vientres: ____/____/____ Toros: ____/____/____

Inventario total de bovinos CARNE: ____/____/____ Vacas (más de 34 meses) ____/____/____

Cría (0 a 9 meses): ____/____/____ Toretes: ____/____/____

Levante (9 a 24 meses) ____/____/____ Toros: ____/____/____

Vientres (24 a 34 meses) ____/____/____

6. Inventario de otros animales:

Ovejas ____/____/____ Cabras ____/____/____ Cerdos ____/____/____ Perros ____/____/____

Búfalos ____/____/____ Gatos ____/____/____ Caballos ____/____/____ Camélidos ____/____/____

Mulares ____/____/____ Aves ____/____/____ Otros: _____

7. ¿La UPA, es miembro de alguna asociación?

Si (cuál) _____ No ☐

8. ¿Tiene más propiedades? Si ☐ No ☐ Cuántas ____/____

En dónde (Provincia) _____

Si responde Sí , siga. Si responde No pase a la pregunta 10 .
--

9. ¿Moviliza animales entre las propiedades? Si ☐ No ☐

10. ¿Su finca tiene un Certificado en vigencia de Predio libre de?

Brucelosis: Si ☐ No ☐ Tuberculosis bovina: Si ☐ No ☐

11. ¿Quién le otorgó esta Certificación? _____

Fecha de Otorgación: _____

12. ¿Cuál es la procedencia de animales de reemplazo?

Propios ☐ Otra propiedad ☐ Feria ☐ Importa ☐

13. ¿Los animales de reemplazo tienen certificación Sanitaria?

Si ☐ Especifique: _____ No ☐ No Sabe ☐

14. ¿Cuál es el destino final del estiércol producido en la finca?

Acequia o río: ☐ Pastos: ☐ Cultivos ☐ Humus: ☐

15. ¿Qué tipo de ordeño utiliza en la finca?

Manual ☐ Mecánico ☐ No ordeña: ☐

Si No ordeña
pase a la
pregunta 17.

16. ¿Cuál es el destino de la leche producida?

UPA ☐ Localidad ☐ Pasteurizadora ☐

17. Destino de los animales para carne o de descarte:

UPA ☐ Venta ☐

Observación:
Pregunta 17.

Sistema de reproducción

18. Sistema reproductivo empleado:

Monta natural ☐ Inseminación Artificial ☐ Mixta ☐ Transferencia de embriones: ☐

19. Procedencia del Toro empleado:

Propio ☐ Alquila en la zona ☐ Alquiler de Toro certificado ☐

20. ¿Existe un lugar específico para las pariciones?

Si: ☐ No: ☐ No sabe: ☐

Donde? _____

Manejo de Abortos

21. ¿Se produjeron abortos en los bovinos en el último año?

Si: ☐ No: ☐ No sabe: ☐

Número de abortos: _____

Si responde
No, pase a la
pregunta 23.

22. ¿Cuál es el destino de los abortos y tejidos abortados?

Consume ☐ Entierra ☐ Incinera ☐ Bota a la basura ☐ Envía a laboratorio ☐

Deja en el campo ☐

23. ¿Conoce usted qué es la brucelosis humana y animal?

Si ☐ No ☐

Si responde
No, pase a la
pregunta 27.

24. ¿Existe brucelosis en la finca? Si ☐ No ☐ No sabe ☐

25. ¿Conoce cómo se transmite la Brucelosis? Si (especifique) _____ ☐

No

26. ¿Algún miembro de la UPA tuvo Brucelosis? Si (quién/es) _____ No ☐ No ☐
sabe

Manifestaciones (Brucelosis Bovinos)

27. ¿Existe higroma (rodillas hinchadas, como abscesos) en los bovinos? Si ☐ No ☐

28. ¿Existe epididimitis u orquitis en los bovinos (machos)? Si ☐ No ☐
29. ¿Otras especies animales han presentado los siguientes signos: abortos, esterilidad, epididimitis u orquitis?
- Si ☐ (cuáles) _____ No ☐

Diagnostico (Brucelosis Bovina Ultimo año)

- | | |
|--|---|
| <p>30. ¿Realiza pruebas diagnósticas para Brucelosis?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> | <p>Si responde No, pase a la pregunta 40.</p> |
|--|---|
31. ¿Con que frecuencia realiza para Brucelosis?
- _____ meses _____ años
32. Fecha del ultimo diagnostico: _____
33. Proporción de animales muestreados: En porcentaje (%): _____
- Proporción de animales positivos: En porcentaje (%): _____
- | | |
|---|---|
| <p>34. ¿Qué muestra se tomo?</p> <p>leche <input type="checkbox"/> sangre <input type="checkbox"/> las <input type="checkbox"/></p> <p>Otros: _____</p> | <p>Si la muestra fue solo de sangre pase a la pregunta 36.</p> |
|---|---|
35. ¿En caso de tomar muestras de leche para pruebas de brucelosis (MRT) con que frecuencia se hace?
- _____ semana _____ meses _____ años

Solo en caso de haber animales Positivos para Brucelosis

36. ¿Cuál es el destino de los animales con Brucelosis?
- Venta ☐ Sacrificio en la UPA ☐ Camal ☐ Consumo familiar ☐ Permanece en la finca ☐
37. ¿Los animales identificados como positivos son eliminados inmediatamente?
- Si ☐ No ☐

38. ¿Qué hacen con los terneros nacidos de vacas positivas a Brucelosis? _____

39. ¿Existe algún tipo de identificación de los animales positivos a Brucelosis? Si (cuál) _____ No ☐

40. ¿En qué otra especie animal se ha realizado pruebas para Brucelosis?

Ninguna ☐

Ovinos ☐ Caprinos ☐ Porcinos ☐ Camélidos ☐ Equinos ☐ Caninos ☐

¿En que especie(s) encontró animales positivos a Brucelosis? _____

Vacunación

41. Realiza la vacunación de los animales contra la brucelosis:

Si ☐ No ☐ No sabe ☐

Si **no** realiza
vacunación o **No Sabe**
pase a la pregunta 46.

42. Especificaciones de la vacuna empleada actualmente:

- Tipo de vacuna: S19____ RB51____ No sabe ☐
- Vía de administración: _____ No sabe ☐
- Edad de primo-vacunación: desde _____ hasta _____ No sabe ☐
- Edad de revacunación: _____ No sabe ☐
- Revacuna anualmente: Si ☐ No ☐
- Vacuna a machos? Si ☐ No ☐
- Interrupción de vacuna? Si ☐ No ☐

43. Quién realiza la vacunación de los animales: _____

Veterinario ☐ Vaquero ☐ otros: _____

44. Desde cuando vacuna a sus animales?

(Fecha o Tiempo aproximado)

Menos de 5 años ☐ más de 5 años ☐

más de 10 años ☐ MAG ☐

ANEXO B

HOJA DE REGISTRO DE CAMPO Y LABORATORIO


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
CENTRO INTERNACIONAL DE ZOONOSIS
**ENCUESTA BRUCELOSIS**

Nombre de la UPA:				Propietario:				Código de la UPA:				Fecha de muestreo:			
Provincia:				Cantón:				Parroquia:				Localidad:			
INFORMACION DEL BOVINO MUESTREADO															
DATOS GENERALES													BRUCELOSIS		
N° de registro	Identificación CIZ	N° de arete	Nombre	Sexo	Edad	Raza	Fecha primovac.	Cepa	Fecha revac.	Cepa	N° de abortos	Fecha ult. Aborto	RB	SAT-EDTA	
				M/H	Meses										

RB:Rosa de Bengala; **SAT:**Suero-aglutinación en tubo o prueba de Wright; **primovac:** primovacunación (anti brucelosis); **ult:** último

NA: No Aplica; **ND:** No Determinado; **NR:** No Realizado; **POS:** Positivo; **NEG:** Negativo; **SOS:** Sospechoso

HF: Holstein Friesian; **BS:** Brown Swiss; **C:** Criolla; **B:** Brahman; **N:** Normando; **G:** Gyr; **J:** Jersey; **MB:** Montbéliarde

Dr. Washington Benítez. Ph. D.
DIRECTOR DEL CIZ

Bioq. Paulina Fernández
LABORATORISTA

ANEXO C

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
CENTRO INTERNACIONAL DE ZONOSIS

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba de Rosa de Bengala (RB)

HOJA Nº

Especie:

Fecha:

Fecha de muestreo:

Procedencia:

Nº de Lote

Fecha de expiración:

Responsable:

PLACA 1

P ()

N ()

SC (+)					
SC (-)					

SC (+): Suero control positivo

P: Positivo

SC (-): Suero control negativo

N: Negativo

PLACA 2

P ()

N ()

SC (+)					
SC (-)					

Observaciones:

ANEXO D

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

CENTRO INTERNACIONAL DE ZONOSIS

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba de SAT – EDTA (RUTINA)

Placa N°

Especie:

Fecha:

Fecha de muestreo:

Procedencia:

	1/12,5 1	1/25 2	1/50 3	1/12,5 1	1/25 2	1/50 3	1/12,5 1	1/25 2	1/50 3	1/12,5 1	1/25 2	1/50 3
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Observaciones: